

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2006 年11 月16 日 (16.11.2006)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2006/120914 A1

## (51) 国際特許分類:

C08G 65/08 (2006.01) C08G 65/333 (2006.01)  
A61K 38/00 (2006.01) C08G 69/48 (2006.01)[JP/JP]; 〒1150042 東京都北区志茂 3-31-12 日  
本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP).

## (21) 国際出願番号:

PCT/JP2006/308826

(74) 代理人: 川口 義雄, 外(KAWAGUCHI, Yoshio et al.);  
〒1600022 東京都新宿区新宿 1 丁目 1 番 1 1 号 友泉  
新宿御苑ビル 川口国際特許事務所 Tokyo (JP).

## (22) 国際出願日:

2006 年4 月27 日 (27.04.2006)

## (25) 国際出願の言語:

日本語

## (26) 国際公開の言語:

日本語

## (30) 優先権データ:

特願2005-138249 2005 年5 月11 日 (11.05.2005) JP

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が  
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,  
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW,  
MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO,  
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日  
本化薬株式会社 (NIPPON KAYAKU KABUSHIKI  
KAISHA) [JP/JP]; 〒1028172 東京都千代田区富士見  
一丁目 1 1 番 2 号 Tokyo (JP).(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可  
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,  
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,  
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,  
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,  
IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),  
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG).

## (72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 増田 亮 (MA-  
SUDA, Akira) [JP/JP]; 〒1150042 東京都北区志茂 3-  
31-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo  
(JP). 恩田 健 (ONDA, Takeshi) [JP/JP]; 〒1150042 東京  
都北区志茂 3-31-12 日本化薬株式会社 医薬  
研究所内 Tokyo (JP). 真柴 洋子 (MASHIBA, Hiroko)  
[JP/JP]; 〒1150042 東京都北区志茂 3-31-12 日  
本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 山本 啓一朗  
(YAMAMOTO, Keiichirou) [JP/JP]; 〒1150042 東京  
都北区志茂 3-31-12 日本化薬株式会社 医薬研  
究所内 Tokyo (JP). 高塩 一俊 (TAKASHIO, Kazutoshi)

## 添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: POLYMERIC DERIVATIVE OF CYTIDINE METABOLIC ANTAGONIST

(54) 発明の名称: シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

(57) Abstract: [PROBLEMS] To provide a derivative of a cytidine metabolic antagonist which can exert a high therapeutic effect  
at a low dose. [MEANS FOR SOLVING PROBLEMS] A polymeric derivative of a cytidine metabolic antagonist which comprises  
a polymeric compound having a polyethyleneglycol moiety and a polymer moiety having a carboxyl group in a side chain and a  
cytidine metabolic antagonist, which has such a structure that the carboxyl group in the side chain of the polymeric compound and  
an amino group in the cytidine metabolic antagonist are bound together to form an amide bond.(57) 要約: 【課題】低投与量で治療効果の高いシチジン系代謝拮抗剤の誘導体が望まれている。【解決手段】ポリ  
エチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボ  
キシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とがアミド結合した構造を有することを特徴とするシチジン系代謝  
拮抗剤の高分子誘導体を提供する。

WO 2006/120914 A1

## 明 細 書

### シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

#### 技術分野

[0001] 本発明は、シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体、その用途及びその製造法に関する。

#### 背景技術

[0002] 悪性腫瘍あるいはウイルス性疾患の治療を目的として種々のシチジン系代謝拮抗剤の開発が行なわれ、抗腫瘍剤(抗癌剤)としてはシタラビン(cytarabine)、ゲムシタビン(gemcitabine)等が、抗ウイルス剤としてはザルシタビン(zalcitabine)、ラミブジン(lamivudine)等が臨床で使用されている。

[0003] しかし、これらシチジン系代謝拮抗剤は強いin vitro活性を示すにもかかわらず、生体内での代謝・排泄を受けやすいために本来の薬剤が持つ薬効を十分に発揮できなかったり、あるいは高投与量を必要とするものが多い。例えば、ゲムシタビンはin vitroではパクリタキセルやドキシソルビシン等の抗癌剤に匹敵する強い細胞増殖抑制活性を有するのに対し、臨床においては体表面積あたり1回1000mg/m<sup>2</sup>の高投与が必要である。これは、2'-デオキシシチジンの代謝酵素であるシチジン脱アミノ化酵素によって塩基の4位アミノ基が代謝・失活されることにより、in vivo利用率が低くなるためと考えられている(非特許文献1参照)。

[0004] ポリマーに薬剤を結合させることにより、生体内における薬物動態が改善し治療効果の向上がみられることがある。非特許文献2には、平均分子量約30000のポリグルタミン酸類とシタラビンとを結合させた高分子誘導体が記載されている。しかしながら、薬剤の高分子誘導体には免疫反応により過敏反応を示す場合があり、その様な場合には薬剤として繰り返し投与ができない。

[0005] 特許文献1にはポリエチレングリコール類にシチジン系誘導体を結合させた高分子誘導体が、非特許文献3にはポリエチレングリコール類の両末端にアスパラギン酸を分枝状に置換させそれにシタラビンを結合させた高分子誘導体が記載されている。しかし、これらの高分子誘導体からの薬剤放出は生体内の酵素による加水分解反応

に大きく依存しているため、臨床上における治療効果が患者の個体差に大きく影響される可能性も問題となる。

[0006] 特許文献2にはポリエチレングリコール類とポリアスパラギン酸が縮合したブロック型ポリマーに薬剤を結合した分子がミセルを形成し医薬となることが記載されている。又、特許文献3にはポリエチレングリコール類とポリグルタミン酸が縮合したブロック型ポリマーのグルタミン酸側鎖カルボキシル基に抗癌性物質を結合させた高分子が記載されている。しかしながら、これらには結合する薬剤としてシチジン系代謝拮抗剤に関する記載はない。

非特許文献1:「キャンサー・サイエンス」、日本癌学会発行、2004年、第95巻、105－111頁(Cancer Science, Japanese Cancer Association, Vol. 95, p. 105－111(2004))

非特許文献2:「キャンサー・リサーチ」(米国)、米国癌学会発行、1984年、第44巻、25－30頁(Cancer Research, American Association for Cancer Research, Vol. 44, p. 25－30(1984))

非特許文献3:「ジャーナル オブ コントロールド リリース」(英国)、エルゼヴィア発行、2002年、第79巻、55－70頁(Journal of Controlled Release, Elsevier, Vol. 79, p. 55－70(2002))

特許文献1:特表2003－524028号公報

特許文献2:特許第2694923号公報

特許文献3:特開平5－955号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明の目的は、低投与量でより高い効果を有し新規な抗癌剤又は抗ウイルス剤となるシチジン系代謝拮抗剤を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは上記課題を解決するために鋭意研究を行なった結果、シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体、特にポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物のカルボキシル基と、シチジン系

代謝拮抗剤の4位のアミノ基とがアミド結合した構造を有することを特徴とするシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を見出して、本発明に到達した。

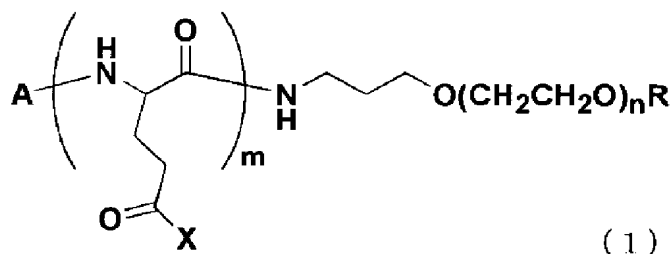
[0009] 即ち、本発明は次の(1)～(13)に関する。

(1) ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とがアミド結合した構造を有することを特徴とするシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(2) 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸鎖からなる、上記(1)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(3) シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体が下記一般式(1)：

[0010] [化1]

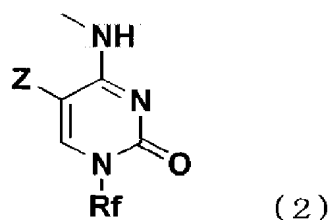


[式中、Rは水素原子又はC1～C6アルキル基を示し、Aは水素原子、C1～C6アシル基又はC1～C6アルコキシカルボニル基を示し、mは平均値で3～200、nは平均値で5～2000を示し、Xはシチジン系代謝拮抗剤残基、水酸基又は疎水性置換基を示し、mのうち3～100%はXがシチジン系代謝拮抗剤残基、0～95%はXが水酸基、0～80%はXが疎水性置換基である]

で表される化合物である、上記(1)又は(2)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

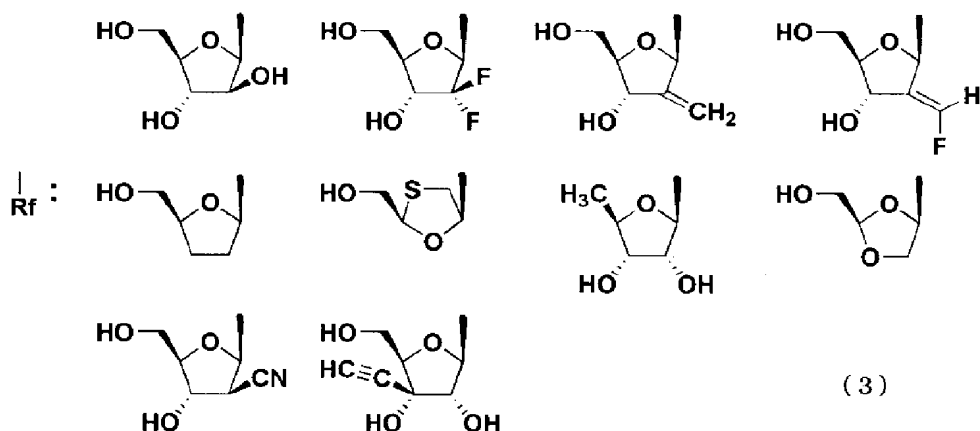
(4) RがC1～C3アルキル基であり、AがC2～C4アシル基であり、mが平均値で5～100、nが平均値で50～1000であり、シチジン系代謝拮抗剤残基が式(2)：

[0011] [化2]



[式中、Zは水素原子又はフッ素原子を示し、-Rfは、式(3)：

[0012] [化3]



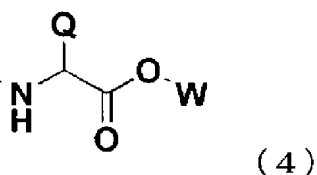
の置換基群より選ばれる基を示す]

で表される基である、上記(3)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(5) Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、Xがシチジン系代謝拮抗剤残基又は水酸基であり、該シチジン系代謝拮抗剤がシタラビン、ゲムシタビン又は5'-デオキシ-5-フルオロシチジンである、上記(3)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(6) 疎水性置換基が式(4)

[0013] [化4]



[式中、Qは中性アミノ酸の側鎖を表し、WはC1～C6アルキル基又はベンジル基を示す]

で表される $\alpha$ -アミノ酸誘導体である、上記(3)又は(4)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(7)Qがイソプロピル基又はベンジル基であり、Wがベンジル基である、上記(6)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(8)疎水性置換基が、式(5)：

[0014] [化5]



[式中、Tはフェニル基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基を示す]

で表される基である、上記(3)又は(4)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(9)Tがベンジル基、3-フェニルプロピル基、4-フェニルブチル基又は5-フェニルペンチル基である、上記(8)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(10)Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、シチジン系代謝拮抗剤がシタラビン、ゲムシタビン又は5'-デオキシ-5-フルオロシチジンであり、疎水性置換基がベンジルオキシ基、4-フェニルブトキシ基、(1-ベンジルオキシカルボニル-2-メチル)プロピルアミノ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基である、上記(3)に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(11)上記(1)～(10)のいずれか1項に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする抗腫瘍剤。

(12)上記(1)～(10)のいずれか1項に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする抗ウイルス剤。

(13)ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物における側鎖のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とを有機溶媒中で脱水縮合剤を用いてアミド結合させることを特徴とする上記(1)～(10)のいずれか1項に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の製造法。

## 発明の効果

- [0015] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤の4位のアミノ基とがアミド結合した構造を有するが、生体内においてシチジン系代謝拮抗剤を徐放することができ、低投与量で治療効果に優れる抗癌剤又は抗ウイルス剤として有用である。更に、酵素非依存的に薬剤徐放性を有することは、治療効果に対する患者の個体差の影響が少ない誘導体となる。又、ミセルを形成する高分子誘導体は選択的に患部に集積し、より高い効果で副作用が少ない薬剤となる。

## 発明を実施するための最良の形態

- [0016] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とがアミド結合した構造を有することを特徴とする。
- [0017] 本発明における「シチジン系代謝拮抗剤」とは、4-アミノピリミジン-2-オン誘導体で抗腫瘍活性又は抗ウイルス活性を有する化合物であれば特に限定されず、上記式(2)で表される核酸塩基部分がシトシン(Zが水素原子)又は5-フルオロシトシン(Zがフッ素原子)で、結合している基(Rf)が上記式(3)の置換基群より選ばれる基である化合物である。
- [0018] 更に具体的には、例えば、シタラビン(cytarabine)、ゲムシタビン(gemcitabine)、2'-デオキシ-2'-メチリデンシチジン(DMDC)、テザシタビン(tezacitabine)、ザルシタビン(zalcitabine)、ラミブジン(lamivudine)、5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(5'-DFCR)、トロキサシタビン(troxacitabine)、2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(CNDAC)、3'-エチニルシチジン又は(-)-β-L-ジオキソランシチジン等が挙げられる。
- [0019] 本発明において「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」における側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分としては、カルボン酸鎖がポリマー主鎖から枝分かれしたグラフト型ポリマー

やポリカルボン酸ポリマーが縮合したブロック型ポリマー等が挙げられる。

- [0020] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がグラフト型ポリマーである上記の高分子化合物としては、例えば、特開平11-279083号公報に記載の、ポリエチレングリコールとアクリル酸類の縮合物とアクリル酸類あるいは無水マレイン酸等とを共重合反応に供し、必要に応じて加水分解反応に付すこと等によって得られるポリマー等が挙げられる。
- [0021] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がブロック型ポリマーである上記の高分子化合物としては、末端官能基を有するポリエチレングリコール類と末端に官能基を有するポリカルボン酸とを結合した化合物や、特許文献3に記載されている、末端にアミノ基を有するポリエチレングリコール類で重合を開始するアミノ酸活性化物の重合反応によって得られる化合物等が挙げられる。
- [0022] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマーとしては、例えば、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリリンゴ酸又はポリグルタミン酸等が挙げられ、好ましくはポリグルタミン酸である。
- [0023] 本発明における「ポリエチレングリコール類」としては、両末端又は片末端が修飾されたポリエチレングリコール誘導体でもよく、その場合、両末端の修飾基は同一でも異なってもよい。末端の修飾基としては、置換基を有していてもよいC1～C6アルキル基が挙げられ、好ましくは置換基を有していてもよいC1～C4アルキル基である。
- [0024] 置換基を有していてもよいC1～C6アルキル基におけるC1～C6アルキル基としては直鎖、分岐鎖又は環状のC1～C6アルキル基が挙げられ、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、2-メチルブチル基、ネオペンチル基、1-エチルプロピル基、ヘキシル基、4-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、2-メチルペンチル基、1-メチルペンチル基、3, 3-ジメチルブチル基、2, 2-ジメチルブチル基、1, 1-ジメチルブチル基、1, 2-ジメチルブチル基、1, 3-ジメチルブチル基、2, 3-ジメチルブチル基、2-エチルブチル基、シクロプロピル基、シクロペンチル基又はシクロヘキシル基等が挙げられ、好ましくはC1～C4アルキル基であり、例えば、メチル



基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、s-ブチル基又はt-ブチル基等であり、特に好ましくはメチル基、エチル基、n-プロピル基又はイソプロピル基である。

[0025] 置換基を有していてもよいC1～C6アルキル基の置換基としては特に限定されないが、例えば、アミノ基、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基等が挙げられ、好ましくはアミノ基である。

[0026] 本発明においては両末端が修飾されたポリエチレングリコール誘導体が好ましく、具体的には、一方の末端がC1～C6アルキル基で他方の末端がアミノC1～C6アルキル基であるポリエチレングリコール誘導体が挙げられ、一方の末端がC1～C3アルキル基で他方の末端がアミノC1～C4アルキル基であるポリエチレングリコール誘導体が好ましく、特に一方の末端がメチル基で他方の末端がアミノプロピル基であるポリエチレングリコール誘導体が好ましい。

[0027] 本発明における「ポリエチレングリコール類」の重量平均分子量は200～500000程度であり、好ましくは500～100000程度、より好ましくは2000～50000程度である。

[0028] 本発明における「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」として好ましくはブロック型ポリマーであり、より好ましくはポリエチレングリコール類と側鎖にカルボキシル基を有するポリマーとのブロック共重合体である。

[0029] ポリエチレングリコール類と側鎖にカルボキシル基を有するポリマーとのブロック共重合体としては、例えば、アルコキシポリエチレングリコール-ポリアクリル酸、アルコキシポリエチレングリコール-ポリメタクリル酸又はアルコキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸等が挙げられ、好ましくはメトキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸である。

[0030] 本発明における「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」の1分子あたりの平均したカルボキシル基数は3～200個程度であり、好ましくは5～100個程度、より好ましくは10～60個程度である。

- [0031] 本発明における「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」の重量平均分子量は500～500000程度であり、好ましくは2000～100000程度であり、より好ましくは3000～50000程度である。
- [0032] 本発明において、ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物にアミド結合しているシチジン系代謝拮抗剤の結合量としては、1個～カルボキシル基の総数の範囲内であれば特に限定されず、生体内に投与した際に薬効を示す量であればよい。好ましくはポリマーの総カルボキシル基数の3～100%、より好ましくは5～70%である。
- [0033] 上記の結合量は、本発明化合物の紫外線吸収スペクトルの強度から求めることができる。又、本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体をアルカリ加水分解することにより遊離するシチジン系代謝拮抗剤を、例えば、高速液体クロマトグラフィー等で定量することによっても求めることができる。
- [0034] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体として代表的な化合物は、上記一般式(1)〔式中、Rは水素原子又はC1～C6アルキル基を示し、Aは水素原子、C1～C6アシル基又はC1～C6アルコキシカルボニル基を示し、mは平均値で3～200、nは平均値で5～2000を示し、Xはシチジン系代謝拮抗剤残基、水酸基又は疎水性置換基を示し、mのうち3～100%はXがシチジン系代謝拮抗剤残基、0～95%はXが水酸基、0～80%はXが疎水性置換基である〕で表される化合物である。
- [0035] 式(1)中、RにおけるC1～C6アルキル基は上記のアルキル基と同じ意味であり、好ましい基も同様である。
- [0036] 式(1)中、AにおけるC1～C6アシル基としては、例えば、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基、イソバレリル基、ピバロイル基又はヘキサノイル基が挙げられ、好ましくはC2～C4アシル基、例えば、アセチル基又はプロピオニル基であり、より好ましくはアセチル基である。
- [0037] 式(1)中、AにおけるC1～C6アルコキシカルボニル基としては、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基、n-ブトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ペントキシカルボ

ニル基、ヘキシルオキシカルボニル基、シクロプロポキシカルボニル基、シクロペンチルオキシカルボニル基又はシクロヘキシルオキシカルボニル基が挙げられ、好ましくはメトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基、ブトキシカルボニル基又はtert-ブトキシカルボニル基であり、より好ましくはエトキシカルボニル基又はtert-ブトキシカルボニル基である。

[0038] 式(1)中、mは平均値で3～200であり、好ましくは5～100程度であり、より好ましくは10～60程度である。

[0039] 式(1)中、nは平均値で5～2000であり、好ましくは50～1000程度であり、より好ましくは100～300程度である。

[0040] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の一般式(1)においてXがシチジン系代謝拮抗剤残基、水酸基又は疎水性置換基であるグルタミン酸誘導体は、ランダムに結合していても、ブロックを形成して結合していてもよい。

[0041] 式(1)中、Xにおけるシチジン系代謝拮抗剤残基とは、上記のシチジン系代謝拮抗剤の残基の意味であり、該シチジン系代謝拮抗剤として特に好ましくは、シタラビン、ゲムシタビン又は5'-デオキシ-5-フルオロシチジンが挙げられる。

[0042] 式(1)中、Xにおける疎水性置換基としては種々の置換基が挙げられ、シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の薬効発現に支障をきたさない限り特に限定されないが、好ましくは上記式(4)[式中、Qは中性アミノ酸の側鎖を表し、WはC1～C6アルキル基又はベンジル基を示す]で表される $\alpha$ -アミノ酸誘導体又は上記式(5)[式中、Tはフェニル基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基を示す]で表される基が挙げられる。

[0043] 式(4)のQにおける中性アミノ酸の側鎖としては、例えば、水素原子、メチル基、イソプロピル基、イソブチル基、s-ブチル基、ベンジル基、ヒドロキシメチル基、1-ヒドロキシエチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基等の天然型アミノ酸残基又はtert-ブトキシメチル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシカルボニルメチル基、2-ベンジルオキシカルボニルエチル基等のアミノ酸残基誘導体等が挙げられ、好ましくはイソプロピル基、イソブチル基、s-ブチル基、ベンジル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシカルボニルメチル基、2-ベンジルオキシカ

ルボニルエチル基等であり、より好ましくはイソプロピル基、ベンジル基、ベンジルオキシメチル基又は2-ベンジルオキシカルボニルエチル基であり、特に好ましくはイソプロピル基又はベンジル基である。

[0044] 式(4)のWにおけるC1～C6アルキル基としては上記のアルキル基と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様である。

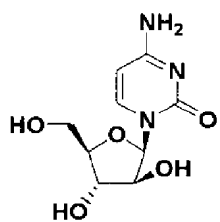
[0045] 式(5)のTにおけるC1～C6アルキル基としては、上記のアルキル基と同じ意味であり、好ましい基も同様である。式(5)で表される基としては、例えば、メキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、tert-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基、シクロプロピルオキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基、シクロヘキシルメキシ基、ベンジルオキシ基、2-フェネチルオキシ基、3-フェニルプロポキシ基、4-フェニルブトキシ基、5-フェニルペンチルオキシ基又はジフェニルメキシ基等が挙げられる。

[0046] 該疎水性置換基としては、例えば、メチルアミノ基、エチルアミノ基、n-プロピルアミノ基、イソプロピルアミノ基、n-ブチルアミノ基、イソブチルアミノ基、n-ペンチルアミノ基、n-ヘキシルアミノ基、シクロプロピルアミノ基、シクロペンチルアミノ基、シクロヘキシルアミノ基、シクロヘキシルメチルアミノ基、ジシクロヘキシルメチルアミノ基、アニリノ基、ベンジルアミノ基、2-フェネチルアミノ基、3-フェニルプロピルアミノ基、4-フェニルブチルアミノ基又はジフェニルメチルアミノ基等のアミノ基も挙げられる。

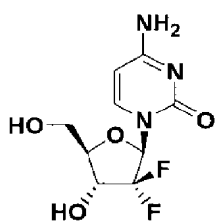
[0047] 式(1)中、Xにおける疎水性置換基としては、ベンジルオキシ基、3-フェニルプロポキシ基、4-フェニルブトキシ基、5-フェニルペンチキシ基、(1-ベンジルオキシカルボニル-2-メチル)プロピルアミノ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基が特に好ましく、ベンジルオキシ基、4-フェニルブトキシ基、(1-ベンジルオキシカルボニル-2-メチル)プロピルアミノ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基が殊更好ましい。

[0048] 式(1)中、ポリマーの総カルボキシル基数(m)に対して、Xがシチジン系代謝拮抗剤残基である割合は3～100%、好ましくは5～70%であり、Xが水酸基である割合は0～95%、好ましくは5～70%であり、Xが疎水性置換基である割合は0～80%、好ましくは20～70%である。

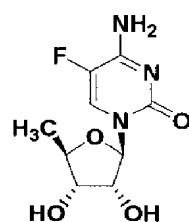
- [0049] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体において、シチジン系代謝拮抗剤等が結合していない側鎖カルボキシル基が存在する場合、上記カルボキシル基は遊離型又はアルカリ類の塩型でもよい。遊離型で得られた場合には自体公知の方法あるいはそれに準じる方法によって目的とする塩型に変換することができ、逆に塩型で得られた場合には自体公知の方法あるいはそれに準ずる方法により遊離型又は目的とする他の塩型に変換することができる。
- [0050] アルカリ類の塩としては、例えば、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩又はトリエチルアンモニウム塩等が挙げられる。
- [0051] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体における側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分を構成する構造単位は、光学異性体が存在する場合は光学活性体でもラセミ体でも任意の割合の混合体でもよい。例えば、側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸誘導体の場合、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ-D-グルタミン酸、側鎖が置換されたL-グルタミン酸又は側鎖が置換されたD-グルタミン酸が任意の割合で任意の結合順で結合したポリマーでよい。
- [0052] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体として特に好ましい化合物としては、例えば、以下の表1に示す化合物が挙げられる。
- [0053] なお、表1において、Bzlはベンジル基、Valはバリン、Pheはフェニルアラニン、C4H8Phは4-フェニルブチル基を表す。又、Xにおいて置換割合はおよその値であり、表中に示した以外の残余は水酸基である。Xのシチジン系代謝拮抗剤としては、シタラビン、ゲムシタビン、5'-デオキシ-5-フルオロシチジン、2'-デオキシ-2'-メチリデンシチジン(DMDC)、3'-エチニルシチジン、2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(CNDAC)及び(-)-β-L-ジオキソランシチジンは以下の化合物である。
- [0054] [化6]



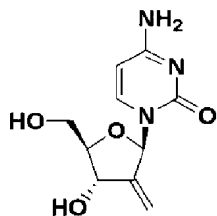
シタラビン



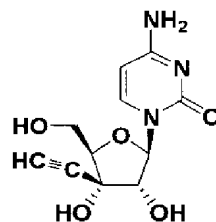
ゲムシタビン



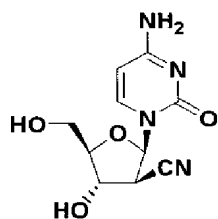
5' -デオキシ-5-フルオロシチジン



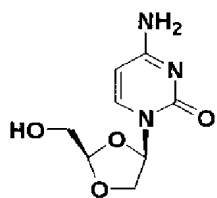
2' -デオキシ-2'-メチリデンシチジン



3' -エチニルシチジン



2' -C-シアノ-2'-デオキシ-1-β-D-アラビノフラノシルシトシン



( - ) -β-L-ジオキソランシチジン

[0055] [表1]

[表 1]

番号	R	n (平均)	m (平均)	A	X:シチジン系 代謝拮抗剤 (割合)	X:疎水性 置換基 (割合)
1	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	シタラビン (30%)	OBzl (50%)
2	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	シタラビン (30%)	Phe-OBzl (40%)
3	CH <sub>3</sub>	272	25	CH <sub>3</sub> CO	シタラビン (20%)	Phe-OBzl (60%)
4	CH <sub>3</sub>	272	23	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	Phe-OBzl (60%)
5	CH <sub>3</sub>	272	23	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	Val-OBzl (60%)
6	CH <sub>3</sub>	272	23	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	OC4H8Ph (60%)
7	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (30%)	OBzl (50%)
8	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (30%)	Phe-OBzl (40%)
9	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (25%)	Phe-OBzl (50%)
10	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	Phe-OBzl (60%)
11	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	Val-OBzl (60%)
12	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (25%)	OC4H8Ph (40%)
13	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (20%)	OC4H8Ph (50%)
14	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	OC4H8Ph (60%)
15	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (30%)	Phe-OBzl (40%)
16	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (30%)	Phe-OBzl (50%)
17	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (20%)	Phe-OBzl (60%)
18	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	Val-OBzl (60%)
19	CH <sub>3</sub>	272	32	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	OC4H8Ph (60%)
20	CH <sub>3</sub>	272	35	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタビン (15%)	OC4H8Ph (55%)

番号	R	n (平均)	m (平均)	A	X: シチジン系 代謝拮抗剤 (割合)	X: 疎水性 置換基 (割合)
21	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	5'-デオキシ-5-フルオロシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)
22	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	5'-デオキシ-5-フルオロシチジン (15%)	OC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> Ph (60%)
23	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	2'-デオキシ-2'-メチリデンシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)
24	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	2'-デオキシ-2'-メチリデンシチジン (15%)	OC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> Ph (60%)
25	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	3'-エチニルシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)
26	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	3'-エチニルシチジン (15%)	OC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> Ph (60%)
27	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1-ベータ-D-アラビノフラノシルシトシン (15%)	Phe-OBzl (60%)
28	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1-ベータ-D-アラビノフラノシルシトシン (15%)	OC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> Ph (60%)
29	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	(-)-ベータ-L-ジ オキソランシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)
30	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	(-)-ベータ-L-ジ オキソランシチジン (15%)	OC <sub>4</sub> H <sub>8</sub> Ph (60%)

本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、例えば、特許文献3記載の方法に準じて製造されたメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体と、シチジン系代謝拮抗剤とを、溶媒中、脱水縮合剤により縮合することにより製造することができるが、特にこの製造法に限定されるわけではない。

[0056] 上記反応における溶媒としては反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、塩化メチレン、クロロホルム、1, 2-ジクロロエタン等のハロゲン化炭化水素類、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテル等のエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリル等のニトリル類、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリ



ドン等のアミド類、1, 3-ジメチルイミダゾリジノン等のウレア類又は上記溶媒の混合溶媒等が挙げられ、好ましくはアミド類又はウレア類であり、より好ましくはジメチルホルムアミド又は1, 3-ジメチルイミダゾリジノンである。

- [0057] 上記反応における脱水縮合剤としては、シチジン系代謝拮抗剤の4位アミノ基とカルボキシル基との縮合反応が進行する限り特に限定されないが、好ましくはDMT-MM(4-(4, 6-ジメトキシ-1, 3, 5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド)、又は2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1, 2-ジヒドロキノリンが挙げられる。
- [0058] 上記反応の反応温度は通常、4～60℃であるが、好ましくは15～50℃である。
- [0059] 上記反応後、必要に応じて自体公知の分離手段、例えば、減圧濃縮、溶媒抽出、結晶化、透析、クロマトグラフィー等を適宜適用して目的化合物を単離、精製することができる。
- [0060] 上記の方法でXがシチジン系代謝拮抗剤残基のみか、シチジン系代謝拮抗剤残基と水酸基とからなる高分子誘導体が得られる。
- [0061] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体が疎水性置換基を有する場合、例えば、特許文献3に記載の方法に準じて製造されたメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体のカルボキシル基の一部に疎水性置換基を導入して得られるポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖の未置換のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とを前記のように有機溶媒中、脱水縮合剤を用いて縮合して製造することができる。
- [0062] 疎水性置換基の導入は、例えば、疎水性置換基がアルコキシ基の場合には対応するアルコールと該カルボキシル基とを溶媒中、脱水縮合剤により縮合(エステル化)すること、又は対応するハロゲン化アルキル等と該カルボキシル基とを溶媒中、塩基の存在下に求核置換反応に供することによって為され、例えば、疎水性置換基が置換アミノ基の場合には対応するアミン類と該カルボキシル基とを溶媒中、脱水縮合剤により縮合(アミド化)することにより製造可能である。
- [0063] 上記脱水縮合反応(エステル化反応)における溶媒としては反応が進行する限り特

に限定されないが、前記のメキシポリエチレングリコールーポリグルタミン酸ブロック共重合体とシチジン系代謝拮抗剤とを脱水縮合させる際に使用できる溶媒と同様な溶媒が使用でき、好ましい溶媒も同様である。脱水縮合剤としてはアルコールとカルボキシル基との脱水縮合反応が進行する限り特に限定されないが、好ましくはジシクロヘキシルカルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、1-ジメチルアミノプロピル-3-エチルカルボジイミド、カルボニルジイミダゾール、クロロギ酸イソブチル又はヒバリン酸クロリドである。

- [0064] 脱水縮合反応の際、反応補助剤を用いてもよく、該反応補助剤としては、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール又は4-ジメチルアミノピリジン、2, 6-ジ-tert-ブチル-4-メチルピリジン等が挙げられる。
- [0065] 脱水縮合反応の反応温度は通常4～60℃であり、好ましくは15～50℃である。反応時間は2時間～数日であり、好ましくは4～48時間である。
- [0066] 上記求核置換反応における溶媒としては反応が進行する限り特に限定されないが、前記のメキシポリエチレングリコールーポリグルタミン酸ブロック共重合体とシチジン系代謝拮抗剤とを脱水縮合させる際に使用できる溶媒と同様な溶媒が使用でき、好ましい溶媒も同様である。塩基としては、例えば、炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等のアルカリ金属炭酸塩類；水素化リチウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム等のアルカリ金属水素化物類；水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ金属水酸化物類；リチウムメキシド、ナトリウムメキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムtert-ブトキシド等のアルカリ金属アルコキシド類；トリエチルアミン、トリブチルアミン、N, N-ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、ピリジン、4-(N, N-ジメチルアミノ)ピリジン、N, N-ジメチルアニリン、N, N-ジエチルアニリン、1, 5-ジアザビシクロ[4. 3. 0]ノナ-5-エン、1, 4-ジアザビシクロ[2. 2. 2]オクタン (DABCO)、1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセン (DBU) 等の有機アミン類等が挙げられ、好ましくは有機アミン類である。
- [0067] 上記求核置換反応の反応温度は通常4～60℃であり、好ましくは室温～50℃である。反応時間は1時間～数日であり、好ましくは4～48時間である。
- [0068] 上記脱水縮合反応(アミド化反応)における溶媒としては反応が進行する限り特に

限定されないが、前記のメトキシポリエチレングリコールーポリグルタミン酸ブロック共重合体とシチジン系代謝拮抗剤とを脱水縮合させる際に使用できる溶媒と同様な溶媒が使用でき、好ましい溶媒も同様である。脱水縮合剤としてはアミン類とカルボキシル基との縮合反応が進行する限り特に限定されないが、好ましくはジシクロヘキシルカルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、1-ジメチルアミノプロピル-3-エチルカルボジイミド、カルボニルジイミダゾール、クロロギ酸イソブチル、ピバリン酸クロリド、DMT-MM(4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド)、TFFH(テトラメチルフルオロホルムアミジニウムヘキサフルオロホスフェート)又はBOP(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート)である。

- [0069] 上記脱水縮合反応の際、反応補助剤を用いてもよく、該反応補助剤としては、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール又は4-ジメチルアミノピリジン、2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルピリジン等が挙げられる。
- [0070] 脱水縮合反応の反応温度は通常4~60℃で行なわれ、好ましくは室温~50℃で、反応時間は1時間~数日で行なわれ、好ましくは4~48時間である。
- [0071] なお、高分子化合物への疎水性置換基とシチジン系代謝拮抗剤との結合反応順は問わないので、混合して反応させてもよいが、多官能基を有する活性本体であるシチジン系代謝拮抗剤の反応及び分解を回避するため、高分子担体へ疎水性置換基を導入した後に、シチジン系代謝拮抗剤を結合させるのが好ましい。
- [0072] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、水溶液中でポリエチレングリコール類部分を外殻とするミセルを形成していてもよい。ミセルの形成については、ゲルろ過クロマトグラフィー(GPC)法又は動的光散乱法等により確認することができる。
- [0073] 本発明において、シチジン系代謝拮抗剤が結合していないカルボキシル基が疎水性置換基と結合することによりミセルを形成しやすくなる。
- [0074] 本発明には上記のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする抗腫瘍剤又は抗ウイルス剤も含まれる。該シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、そのまま投与することも、又、医薬上許容できる物質と混合した薬学的組成物として投

与することもできる。薬学的組成物の剤型は注射剤、粉末剤、顆粒剤、錠剤、坐剤等いかなるものでもよい。又、これらの製剤は医薬用に用いられる種々の補助剤、即ち、担体やその他の助剤、例えば、安定剤、防腐剤、無痛化剤、乳化剤等の添加剤を含有していてもよい。

- [0075] 製剤中におけるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の含量は製剤により種々異なるが、通常0.1～100重量%、好ましくは1～98重量%である。
- [0076] シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする本発明の抗腫瘍剤の適用は特に限定されないが、例えば、非小細胞肺癌、膵臓癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、乳癌、卵巣癌、膀胱癌、AIDS関連カポジ肉腫等に使用され得る。
- [0077] シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする本発明の抗ウイルス剤の適用は特に限定されないが、例えば、後天性免疫不全症候群(AIDS)、带状疱疹、単純ヘルペスウイルス感染症等に使用され、感染予防目的にも使用され得る。
- [0078] 本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の投与方法として、経口、注射、直腸内投与、門脈内投与、臓器の灌流液に混合、患部臓器への局所投与等いずれの投与方法でも可能であるが、好ましくは非経口的投与であり、より好ましくは注射による静脈内投与、動脈内投与又は患部臓器への局所投与である。本発明のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の投与量は、病状、投与方法、患者の状態、年齢、体重等により異なるが、通常、体表面積 $1\text{m}^2$ あたり $1\text{mg} \sim 5000\text{mg}$ 、好ましくは $10\text{mg} \sim 2000\text{mg}$ であり、これを1日1回又は数回に分けて投与してもよい。又、この投与は連日行なうこともできるが、数日から数ヶ月の間をおいて反復投与を行なってもよい。必要に応じて上記以外の投与方法、投与量、投与スケジュールを用いることができる。
- [0079] 本発明の高分子誘導体にはプロドラッグを結合した場合も含まれる。ここで、プロドラッグとは生物学的に活性な親化合物の化学的誘導体であって、投与すると生体内で該親化合物を遊離するものである。

## 実施例

- [0080] 以下に、実施例、参考例及び試験例を示し、本発明を更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらに限定されるものではない。

参考例1 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

片末端メキシ基片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(SUNBRIG HT MEPA-12T、日本油脂株式会社製、平均分子量12000、16g)をジメチルスルホキシド(320mL)に溶解し、 $\gamma$ -ベンジル-L-グルタメート N-カルボン酸無水物(BLG-NCA、9.48g;ポリエチレングリコールに対して27当量)を加え、30℃にて一晚撹拌した。イソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、6.4L)撹拌下に反応液を滴下し、更に3時間撹拌した。析出した沈殿物をろ取し、イソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、400mL)にて洗浄した。得られた生成物(22.78g)をN,N-ジメチルホルムアミド(370mL)に溶解し、無水酢酸(6.83mL)を加えて、20℃にて一晚撹拌した。イソプロピルエーテル-酢酸エチル混合溶媒(4:1、3.7L)撹拌下に滴下し、更に3時間撹拌した。析出した沈殿物をろ取し、イソプロピルエーテル-酢酸エチル混合溶媒(4:1、300mL)にて洗浄した。得られた生成物(22.92g)をN,N-ジメチルホルムアミド(370mL)に溶解し、5%パラジウム炭素(55%含水、2.50g)を加えて、水素雰囲気下30℃にて4時間、次いで室温にて一晚撹拌した。パラジウム炭素をろ別後、ろ液をイソプロピルエーテル-酢酸エチル混合溶媒(4:1、5L)撹拌下に滴下し、更に1時間撹拌した。析出した沈殿物をろ取し、イソプロピルエーテル-酢酸エチル混合溶媒(4:1、300mL)にて洗浄した。得られた生成物(16g)を蒸留水(800mL)に溶解し、1M水酸化ナトリウム水溶液を加えて液性をpH11に調整した。蒸留水を加えて最終液量を1600mLとし、塩化ナトリウム(80g)を加えた。この溶液を吸着樹脂HP-20ss(三菱化学製、500mL)のカラムに通塔し、5%塩化ナトリウム水溶液(2000mL)及び蒸留水(20000mL)にて洗浄後、50%アセトニトリル水溶液(2500mL)にて溶出した。目的物を含む溶出画分を陽イオン交換樹脂Dowex 50W(ダウケミカル社製、プロトン型、100mL)のカラムに通塔、溶出し、更に50%アセトニトリル水(150mL)にて溶出した。目的物を含む溶出画分を液量が約300mLになるまで減圧下に濃縮した後、凍結乾燥して、標記化合物(15.84g)を得た。

[0081] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸

の平均重合数(カルボン酸数)は、26.22であった。

参考例2 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約41のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを45当量用いることにより標記化合物を得た。

[0082] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボン酸数)は、41.45であった。

参考例3 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約24のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを25当量用いることにより、標記化合物を得た。

[0083] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボン酸数)は、23.70であった。

参考例4 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約32のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを35当量用いることにより、標記化合物を得た。

[0084] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボン酸数)は、31.71であった。

参考例5 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約36のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを40当量用いることにより、標記化合物を得た。

[0085] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボン酸数)は、35.90であった。

参考例6 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約21のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを23当

量用いることにより、標記化合物を得た。

- [0086] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボン酸数)は、21.38であった。

参考例7 分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを30当量用いることにより、標記化合物を得た。

- [0087] 水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボン酸数)は、26.48であった。

参考例8 分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約24のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物とL-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体の合成

参考例3記載の分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約24のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(1.533g)をN,N-ジメチルホルムアミド(32mL)に溶解し、L-フェニルアラニンベンジルエステルの4-トルエンスルホン酸塩(0.464g)、TFFH(0.286g)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.672mL)及び2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルピリジン(0.495g)を加えて37℃にて20時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(64mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(256mL)を滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を30%アセトニトリル水(45mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液にアセトニトリル(15mL)を加え、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型)に通塔し、50%アセトニトリル水にて溶出した。目的化合物を含む溶出画分を減圧下1/2容量まで濃縮後、凍結乾燥して、標記化合物(1.689g)を得た。

- [0088] 本化合物を加水分解後、遊離したベンジルアルコールを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して32.8%であった。

## [0089] 加水分解の方法

標記化合物(34.48mg)をメタノール(1mL)に溶解し、0.5M水酸化ナトリウム水溶液(1mL)を加えて40℃にて1時間攪拌した。酢酸にて中和後、蒸留水にて希釈して正確に5mL溶液とした。

## [0090] HPLCの分析条件(ベンジルアルコールの分析)

カラム:Inertsil ODS-3(粒径5 $\mu$ m)、4.6 $\phi$ ×150mm;

カラム温度:40℃;

溶離液 A液:1%リン酸水溶液、B液:アセトニトリル;

グラジエント:B液%(時間、分)30(0)、80(10);

流速:1mL/分;

検出器(検出波長):UV(260nm)

参考例9 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約41のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物とL-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体の合成

参考例2記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約41のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(176.5mg)をN,N-ジメチルホルムアミド(5.3mL)に溶解し、L-フェニルアラニンベンジルエステルの4-トリエンスルホン酸塩(63.0mg)、TFFH(38.9mg)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(117.3 $\mu$ L)及び2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルピリジン(87.0mg)を加えて37℃にて22時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(10.6mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(42.4mL)を滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取り、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を20%アセトニトリル水(16mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、9mL)に通塔し、50%アセトニトリル水にて溶出した。目的化合物を含む溶出画分を凍結乾燥して、標記化合物(194.0mg)を得た。

## [0091] 本化合物を参考例8と同様の方法で加水分解後、遊離したベンジルアルコールを



参考例8と同様な条件で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して32.6%であった。

参考例10 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約32のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物とL-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体の合成

参考例4記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約32のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(668mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(13mL)に溶解し、L-フェニルアラニンベンジルエステルの4-トリエンシルホン酸塩(282mg)、TFFH(175mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(345  $\mu$ L)を加えて40°Cにて20時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(26mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(104mL)を滴下した。析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水(16mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、10mL)に通塔し、50%アセトニトリル水にて溶出した。目的化合物を含む溶出画分を凍結乾燥して、標記化合物(762mg)を得た。

[0092] 本化合物を参考例8と同様の方法で加水分解後、遊離したベンジルアルコールを参考例8と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して41.8%であった。

参考例11 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約36のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物とL-バリンベンジルエステルとのアミド結合体の合成

参考例5記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約36のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(531mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(10.6mL)に溶解し、L-バリンベンジルエステルの4-トリエンシル

ルホン酸塩(195mg)、TFFH(135mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(288  $\mu$  L)を加えて40℃にて30時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(20mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(80mL)を滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を30%アセトニトリル水(25mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液に陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、3mL)を加え、30分間攪拌後、樹脂をろ去した。目的化合物を含むろ液を凍結乾燥して標記化合物(559mg)を得た。

[0093] 本化合物を参考例8と同様の方法で加水分解後、遊離したベンジルアルコールを参考例8と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているVal-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して41.3%であった。

参考例12 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物とL-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体の合成

参考例1記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(6.00g)をN, N-ジメチルホルムアミド(150mL)に溶解し、L-フェニルアラニンベンジルエステルの塩酸塩(2.08g)、DMT-MM(2.37g)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(1.24mL)を加えて40℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、1500mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を97重量%DMF水(150mL)に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、15mL)を加え、2時間室温で攪拌後、樹脂をろ去し、樹脂をDMF(75mL)にて洗浄した。得られたろ液を、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)(2400mL)に滴下し、30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、標記化合物(6.88g)を得た。

[0094] 本化合物を参考例8と同様の方法で加水分解後、遊離したベンジルアルコールを参考例8と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところ、ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して62.4%であった。

参考例13 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と臭化ベンジルとのエステル結合体の合成

参考例1記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(342mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(6.8mL)に溶解し、臭化ベンジル(29.0  $\mu$ L)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(53.1  $\mu$ L)を加えて37°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(13.6mL)にて希釈し、撹拌下、ジイソプロピルエーテル(54.4mL)を滴下した。1時間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水(20mL)に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、4mL)に通塔し、50%アセトニトリル水にて溶出した。目的化合物を含む溶出画分を減圧下1/2容量まで濃縮後、凍結乾燥して、標記化合物(352mg)を得た。

[0095] 本化合物を参考例8と同様の方法で加水分解後、遊離したベンジルアルコールを参考例8と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量することにより、本化合物のOBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して25.0%であった。

参考例14 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と4-フェニルブチルブロミドとのエステル結合体の合成

参考例7記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(2.33g)をN, N-ジメチルホルムアミド(50mL)に溶解し、4-フェニルブチルブロミド(682mg)、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン(DBU、598  $\mu$ L)を加えて38°Cにて一晩撹

拌した。反応液を室温まで冷却後、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒（4：1、500mL）に滴下した。1時間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒（4：1）にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W（プロトン型、5mL）を加え、2時間攪拌後、樹脂をろ去後、ろ液を凍結乾燥して、標記化合物（2.54g）を得た。

[0096] 本化合物を参考例8と同様な条件で加水分解後、遊離した4-フェニルブタノールを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にて定量することにより、本化合物の4-フェニルブトキシ基の結合率を求めたところ、ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して65.7%であった。

実施例1 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が21、Xがゲムシタビン又は水酸基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例6記載の分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約21のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物（759mg）及び塩酸ゲムシタビン（330mg）にN,N-ジメチルホルムアミド（15mL）及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン（192 $\mu$ L）を加えて、37℃にて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン（EEDQ、300mg）を加えて、37℃にて20時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール（30mL）にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル（120mL）を滴下した。1時間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒（4：1）にて洗浄した。得られた生成物を25%アセトニトリル水（40mL）に溶解し、透析膜（分画分子量：12000～14000）を用いて、蒸留水（2L×3）にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物（1078mg）を得た。

[0097] 本化合物を加水分解後、遊離したゲムシタビンを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にて定量することにより、本化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で20.8%（w/w）（ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して58.0%）であった。又、本発明化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.3%以下であった。

[0098] 加水分解の方法

標記化合物(3.60mg)をメタノール(0.5mL)に溶解し、濃アンモニア水(0.5mL)を加えて密栓し、37℃にて1時間攪拌した。酢酸にて中和後、蒸留水にて希釈して正確に10mL溶液とした。

[0099] HPLCの分析条件(ゲムシタビンの分析)

カラム:Inertsil ODS-3(粒径5 $\mu$ m)、4.6 $\phi$ ×150mm;

カラム温度:40℃;

溶離液:95%リン酸緩衝液(10mM、pH6.9)－5%アセトニトリル;

流速:1mL/分;

検出器(検出波長):UV(275nm)

実施例2 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が24、Xがゲムシタビン、水酸基又はL-フェニルアラニンベンジルエステル残基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例8記載の化合物(1.298g)及び塩酸ゲムシタビン(0.366g)にN,N-ジメチルホルムアミド(26mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.213mL)を加えて37℃にて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ、0.362g)を加えて37℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(52mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(208mL)を滴下した。1時間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を25%アセトニトリル水(40mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000～14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(1.330g)を得た。

[0100] 本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で10.7%(w/w)(ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して28.1%)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.3%以下であった。

実施例3 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が41、Xがゲムシタビン、水酸基又はL-フェニルアラニンベンジルエステル残基であ

るシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例9記載の化合物(165mg)及び塩酸ゲムシタビン(67.4mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(3.3mL)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(39.2  $\mu$ L)を加えて37°Cにて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1, 2-ジヒドロキノリン(EEDQ、56.0mg)を加えて37°Cにて23時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(6.6mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(26.4mL)を滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を10%アセトニトリル水(16mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して標記化合物(183mg)を得た。

[0101] 本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で21.2%(w/w)(ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して42.6%)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.3%以下であった。

実施例4 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が26、Xがゲムシタビン、水酸基又はベンジルオキシ基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例13記載の化合物(295mg)及び塩酸ゲムシタビン(108.5mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(6mL)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(63.1  $\mu$ L)を加えて37°Cにて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1, 2-ジヒドロキノリン(EEDQ、98.2mg)を加えて37°Cにて23時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(12mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(48mL)を滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を10%アセトニトリル水(16mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(334mg)を得た。

。

[0102] 本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で20.5% (w/w) (ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して49.9%) であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は5.1% であった。

実施例5 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が36、Xがゲムシタビン、水酸基又はL-バリンベンジルエステル残基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例11記載の化合物(515mg)及び塩酸ゲムシタビン(134mg)にN,N-ジメチルホルムアミド(10.3mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(77.9  $\mu$ L)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ、166mg)を加えて40℃にて20時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(20.6mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(82.4mL)を滴下した。析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を30%アセトニトリル水(20mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(574mg)を得た。

[0103] 本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で14.1% (w/w) (ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して28.8%) であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

実施例6 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が26、Xがゲムシタビン、水酸基又はL-フェニルアラニンベンジルエステル残基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例12記載の化合物(3.0g)及び塩酸ゲムシタビン(492mg)にN,N-ジメチルホルムアミド(75mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(286  $\mu$ L)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロ

キノリン(EEDQ、508mg)を加えて40℃にて24時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)(750mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水(50mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(3L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(2.94g)を得た。

- [0104] 本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で4.67%(w/w)(ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して11.9%)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

実施例7 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が26、Xがゲムシタビン、水酸基又は4-フェニルブチルアルコール残基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例14記載の化合物(2.07g)及び塩酸ゲムシタビン(375mg)にN,N-ジメチルホルムアミド(50mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(218μL)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ、386mg)を加えて40℃にて24時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、750mL)に滴下した。1時間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水(25mL)に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(3L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(2.05g)を得た。

- [0105] 本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で7.35%(w/w)(ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して17.5%)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。



実施例8 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が32、Xがシタラビン又は水酸基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例4記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約32のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(130mg)及びシタラビン(50.0mg)をN,N-ジメチルホルムアミド(2.6mL)にて溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ、63.6mg)を加えて40℃にて24時間撹拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(5.2mL)にて希釈し、撹拌下、ジイソプロピルエーテル(20.8mL)を滴下した。30分間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を20%アセトニトリル水に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(143mg)を得た。

[0106] 本化合物を加水分解後、遊離したシタラビンを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のシタラビン含量を求めたところ、シタラビン換算で22.5%(w/w)(ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して59.2%)であった。

[0107] 加水分解の方法

標記化合物(3.20mg)をメタノール(0.5mL)に溶解し、濃アンモニア水(0.5mL)を加えて密栓し、37℃にて1時間撹拌した。酢酸にて中和後、蒸留水にて希釈して正確に10mL溶液とした。

[0108] HPLCの分析条件(シタラビンの分析)

カラム:SUPELCO Discovery HS F5(粒径5 $\mu$ m)、4.6 $\phi$ ×250mm;

カラム温度:40℃;

溶離液:リン酸緩衝液(10mM、pH6.9);

流速:1mL/分;

検出器(検出波長):UV(275nm)

実施例9 式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、nの平均値が272、mの平均値が32、Xがシタラビン、水酸基又はL-フェニルアラニンベンジルエステル残基であるシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体

参考例10記載の化合物(267mg)及びシタラビン(50.0mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(5.3mL)にて溶解後、2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1, 2-ジヒドロキノリン(EEDQ、63.6mg)を加えて、40℃にて21時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、エタノール(10.6mL)にて希釈し、攪拌下、ジイソプロピルエーテル(42.4mL)を滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を30%アセトニトリル水に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(290mg)を得た。

- [0109] 本化合物を実施例8と同様の方法で加水分解後、遊離したシタラビンを実施例8と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のシタラビン含量を求めたところ、シタラビン換算で11.3%(w/w)(ポリカルボン酸のカルボキシル基に対して31.5%)であった。

#### 試験例1 酵素非存在下における薬剤放出性試験

実施例1の化合物(図1中では化合物1と表記)、実施例2の化合物(図1中では化合物2と表記)又は実施例7の化合物(図1中では化合物7と表記)をリン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)に1.0mg/mLとなるように溶解し、37℃にて定温放置した。放出されたゲムシタビン量をHPLCにて経時的に測定し、使用した化合物中の全ゲムシタビン量に対する放出されたゲムシタビン量の割合を求めた。結果を図1に示す。この結果、本発明の化合物は酵素に依存せずに薬剤を徐放することが示された。

#### 試験例2 マウス血漿中における薬剤放出性試験

実施例1の化合物(2.3mg;図2中では化合物1と表記)又は実施例2の化合物(3.7mg;図2中では化合物2と表記)をリン酸緩衝生理食塩水(0.1mL、pH7.4)に溶解後、マウスより採血し調製した血漿(0.4mL)を4倍量(v/v)加えて37℃にて定温放置した。経時的に50 $\mu$ Lずつ取り、50%メタノール水(450 $\mu$ L)にて希釈した。メンブランフィルター(孔径0.45 $\mu$ m)にて除タンパク処理した後、放出されたゲムシタビン量をHPLCにて測定し、使用した化合物中の全ゲムシタビン量に対する放出されたゲムシタビン量の割合を求めた。結果を図2に示す。本発明の化合物は血漿中でも薬剤を徐放することが示された。

## 試験例3 担癌マウスに対する抗腫瘍効果(1)

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26腫瘍塊を約2ミリメートル角のブロックにし、套管針を用いてマウス皮下に移植した。腫瘍移植後7日目に実施例1の化合物(表2中では化合物1と表記)、実施例2の化合物(表2中では化合物2と表記)、実施例4の化合物(表2中では化合物4と表記)又は対照薬としての塩酸ゲムシタビンを5%ブドウ糖注射液にて溶解し、表2に示す投与量で静脈内に単回投与した。投与開始日及び投与開始後7日目の腫瘍体積を下記の式により算出し、投与開始日に対する投与開始後7日目の相対腫瘍体積を求めた。結果を表2に示す。

[0110] [数1]

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = \frac{[\text{腫瘍の長径(mm)}] \times [\text{腫瘍の短径(mm)}] \times [\text{腫瘍の短径(mm)}]}{2}$$

[0111] [表2]

[表 2]

薬剤	投与量 (塩酸ゲムシタビン換算) (mg/kg)	相対腫瘍体積*
無処置	0	8.8 ± 4.9
化合物1	50	0.4 ± 0.2
	25	1.5 ± 0.5
化合物2	12.5	0.5 ± 0.3
	6.25	2.4 ± 1.1
化合物4	25	0.5 ± 0.1
	6.25	3.6 ± 0.5
対照薬	200	1.4 ± 0.1
	100	2.6 ± 0.7

\*薬剤投与開始日の腫瘍体積を1.0としたときの  
投与開始後7日目の平均相対腫瘍体積(平均±SD)

この結果、本発明の化合物は、対照薬である塩酸ゲムシタビンと比較して低投与量で同等以上の抗腫瘍効果を有することが明らかである。又、疎水性置換基を有する本発明化合物(実施例2の化合物又は実施例4の化合物)は、疎水性置換基を有しない化合物(実施例1の化合物)に比べて、更に少ない投与量で同等の効果を有することが示された。

## 試験例4 担癌マウスに対する抗腫瘍効果(2)

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26腫瘍塊を約2ミリメートル角のブロックにし、套管針を用いてマウス皮下に移植した。腫瘍移植後7日目に実施例7の化合物(表3中では化合物7と表記)又は対照薬としてのゲムシタビンを5%ブドウ糖注射液にて溶解し、表3に示す投与量で静脈内に単回投与した。投与開始日及び投与開始後10日目の腫瘍体積を試験例3と同様に算出し、投与開始日に対する投与開始後10日目の相対腫瘍体積を求めた。結果を表3に示す。

[0112] [表3]

[表 3]

薬剤	投与量 (塩酸ゲムシタビン換算) (mg/kg)	相対腫瘍体積*
無処置	0	10.5 ± 5.0
化合物7	25	0.3 ± 0.3
	16.7	1.1 ± 0.5
対照薬	200	3.4 ± 0.6
	100	3.9 ± 0.5

\*薬剤投与開始日の腫瘍体積を1.0としたときの  
投与開始後7日目の平均相対腫瘍体積(平均±SD)

この結果、本発明の化合物は、対照薬である塩酸ゲムシタビンと比較して低投与量で同等以上の抗腫瘍効果を有することが明らかである。

## 試験例5 担癌マウスに対する抗腫瘍効果(3)

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26腫瘍塊を約2ミリメートル角のブロックにし、套管針を用いてマウス皮下に移植した。腫瘍移植後7日目に実施例8の化合物(表4中では化合物8と表記)、実施例9の化合物(表4中では化合物9と表記)又は対照薬としてのシタラビンを5%ブドウ糖注射液にて溶解し、表4に示す投与量で静脈内に単回投与した。投与開始日及び投与開始後10日目の腫瘍体積を試験例3と同様に算出し、投与開始日に対する投与開始後10日目の相対腫瘍体積を求めた。結果を表4に示す。

[0113] [表4]

[表 4]

薬剤	投与量 (シタラビン換算) (mg/kg)	相対腫瘍体積*
無処置	0	10.4 ± 4.0
化合物8	200	6.9 ± 1.3
	100	9.4 ± 2.8
化合物9	150	5.7 ± 1.5
	100	6.4 ± 0.5
対照薬	1600	8.4 ± 2.9
	800	10.0 ± 3.3
	100 × 5**	9.0 ± 2.0

\*薬剤投与開始日の腫瘍体積を1.0としたときの  
投与開始後10日目の平均相対腫瘍体積(平均±SD)

\*\*100 mg/kg, 5日間連投

この結果、本発明の化合物は、対照薬であるシタラビンと比較して低投与量でより高い抗腫瘍効果を有することが明らかである。又、疎水性置換基を有する化合物(実施例9の化合物)は、疎水性置換基を有しない化合物(実施例8の化合物)に比べて、更に少ない投与量で同等の効果を有することが示された。

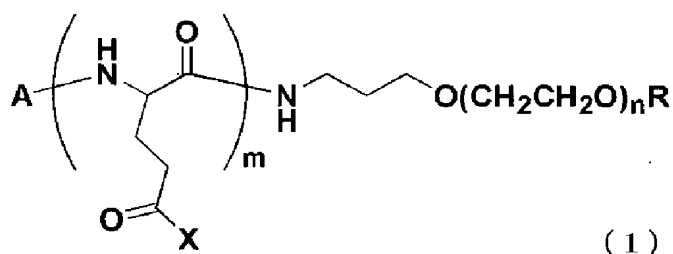
#### 図面の簡単な説明

[0114] [図1]酵素非存在下における薬剤放出の経時変化を示す。

[図2]マウス血漿中における薬剤放出の経時変化を示す。

## 請求の範囲

- [1] ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とがアミド結合した構造を有することを特徴とするシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [2] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸鎖からなる、請求項1に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [3] シチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体が下記一般式(1)：
- [化7]

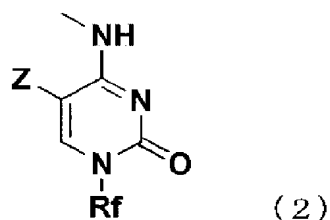


[式中、Rは水素原子又はC1～C6アルキル基を示し、Aは水素原子、C1～C6アシル基又はC1～C6アルコキシカルボニル基を示し、mは平均値で3～200、nは平均値で5～2000を示し、Xはシチジン系代謝拮抗剤残基、水酸基又は疎水性置換基を示し、mのうち3～100%はXがシチジン系代謝拮抗剤残基、0～95%はXが水酸基、0～80%はXが疎水性置換基である]

で表される化合物である、請求項1又は2に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

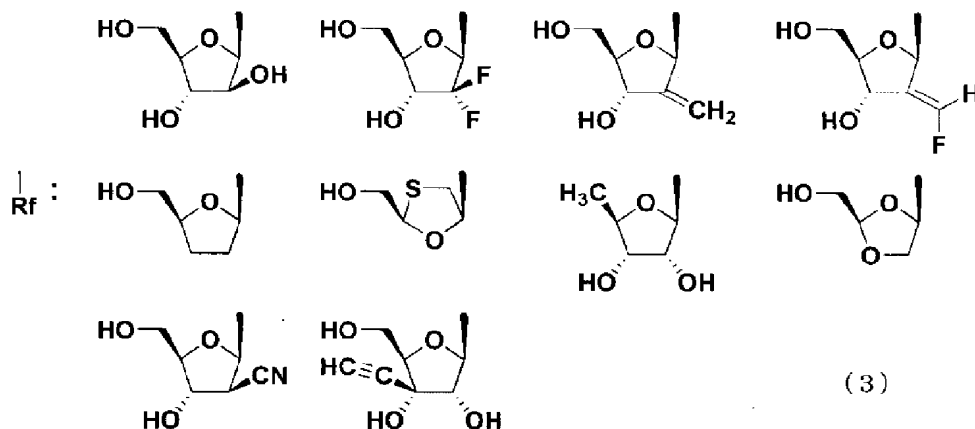
- [4] RがC1～C3アルキル基であり、AがC2～C4アシル基であり、mが平均値で5～100、nが平均値で50～1000であり、シチジン系代謝拮抗剤残基が式(2)：

[化8]



[式中、Zは水素原子又はフッ素原子を示し、 $-R_f$ は、式(3)：

[化9]



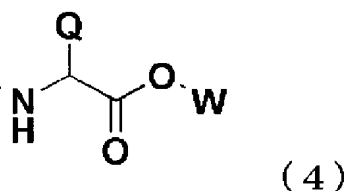
の置換基群より選ばれる基を示す]

で表される基である、請求項3に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [5] Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、Xがシチジン系代謝拮抗剤残基又は水酸基であり、該シチジン系代謝拮抗剤がシタラビン、ゲムシタビン又は5'-デオキシ-5-フルオロシチジンである、請求項3に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [6] 疎水性置換基が式(4)：

[化10]



[式中、Qは中性アミノ酸の側鎖を表し、WはC1～C6アルキル基又はベンジル基を示す]

で表される $\alpha$ -アミノ酸誘導体である、請求項3又は4に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [7] Qがイソプロピル基又はベンジル基であり、Wがベンジル基である、請求項6に記載

のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [8] 疎水性置換基が、式(5)：

[化11]



[式中、Tはフェニル基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基を示す]

で表される基である、請求項3又は4に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [9] Tがベンジル基、3-フェニルプロピル基、4-フェニルブチル基又は5-フェニルペンチル基である、請求項8に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [10] Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、シチジン系代謝拮抗剤がシタラビン、ゲムシタビン又は5'-デオキシ-5-フルオロシチジンであり、疎水性置換基がベンジルオキシ基、4-フェニルブトキシ基、(1-ベンジルオキシカルボニル-2-メチル)プロピルアミノ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基である、請求項3に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [11] 請求項1～10のいずれか1項に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする抗腫瘍剤。
- [12] 請求項1～10のいずれか1項に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする抗ウイルス剤。
- [13] ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、シチジン系代謝拮抗剤のアミノ基とを有機溶媒中で脱水縮合剤を用いてアミド結合させることを特徴とする請求項1～10のいずれか1項に記載のシチジン系代謝拮抗剤の高分子誘導体の製造法。



[図1]

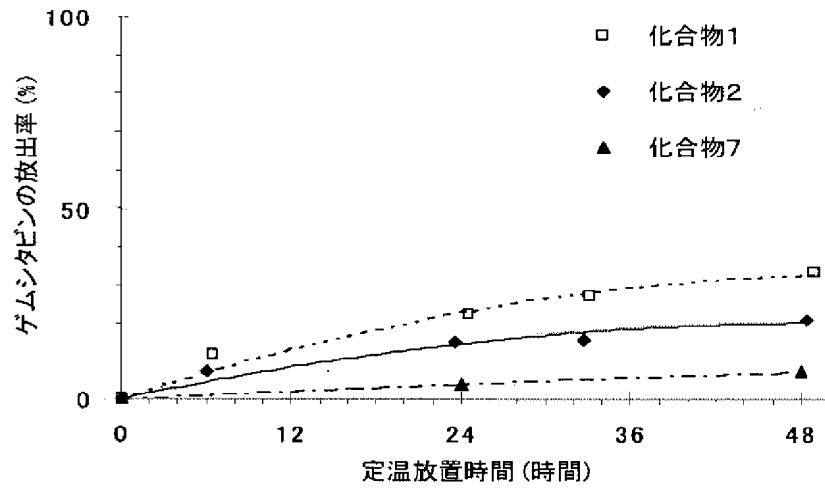


図1 酵素非存在下における薬剤放出性

[図2]

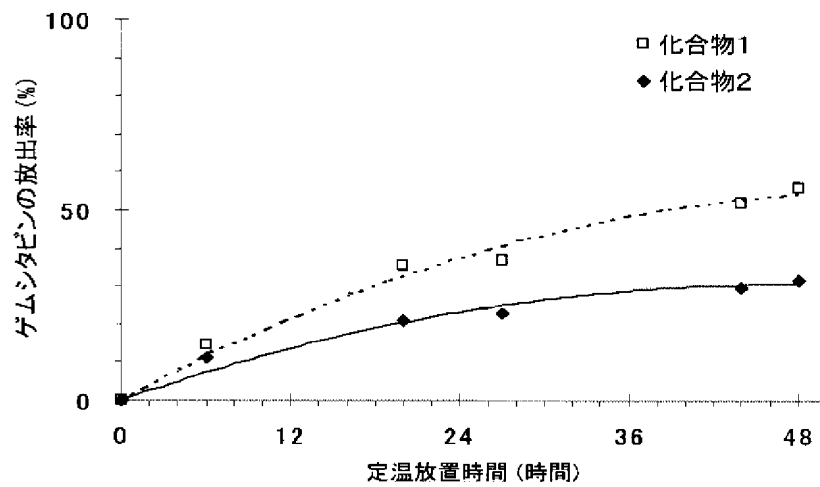


図2 マウス血漿中における薬剤放出性

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/308826

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08G65/08(2006.01), A61K38/00(2006.01), C08G65/333(2006.01), C08G69/48(2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08G65/00-67/04, A61K38/00, C08G69/00-69/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2006
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2006	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAplus (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2004-532289 A (ENZON PHARMACEUTICALS, INC.), 21 October, 2004 (21.10.04), Claims 1, 18, 19; Par. Nos. [0026], [0049] to [0051], [0056] to [0058], [0104] to [0106] & US 2002/0183259 A1 & WO 2002/065988 A2 & CA 002437989 A	1, 2, 11-13 3-10
Y	JP 2-300133 A (Research Development Corp. of Japan), 12 December, 1990 (12.12.90), Claims; page 2, upper right column, line 14 to lower left column, line 12; page 3, lower right column, lines 3 to 4; page 3, lower right column, lines 9 to 15 & EP 0397307 A1 & US 5412072 A & JP 8-310970 A & US 5693751 A & AU 9054699 A & CA 2016505 A	3-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
13 July, 2006 (13.07.06)

Date of mailing of the international search report  
25 July, 2006 (25.07.06)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/308826

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 6-206832 A (Nippon Kayaku Co., Ltd., Yasuhisa SAKURAI, Research Development Corp. of Japan), 26 July, 1994 (26.07.94), Claim 1; Par. Nos. [0004], [0034] (Family: none)	4-10
A	JP 8-48766 A (Mitsui Toatsu Chemicals, Inc.), 20 February, 1996 (20.02.96), Claims; Par. No. [0001] & EP 0685504 A2 & US 5571889 A	6,7
A	JP 2003-524028 A (Enzon, Inc.), 12 August, 2003 (12.08.03), Claims; Par. Nos. [0042] to [0044] & WO 2001/021135 A2 & AU 003885101 A & CA 002383240 A	1-13

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2006/308826

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The invention of claim 1 is not novel, as disclosed in a document (JP 2004-532289 A) listed in Box C. Therefore, the invention of claim 1 has no "special technical feature" in the meaning within PCT Rule 13.2, second sentence.

Thus, it does not appear that there is a technical relationship among the inventions of claims 1-13 involving one or more of the same or corresponding special technical features, and therefore these inventions are not considered to be so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**  
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. C08G65/08(2006.01), A61K38/00(2006.01), C08G65/333(2006.01), C08G69/48(2006.01)			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. C08G65/00 - 67/04, A61K38/00, C08G69/00 - 69/50			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 日本国公開実用新案公報 1 9 7 1 - 2 0 0 6 年 日本国実用新案登録公報 1 9 9 6 - 2 0 0 6 年 日本国登録実用新案公報 1 9 9 4 - 2 0 0 6 年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus(STN), REGISTRY(STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
X Y	JP 2004-532289 A（エンジン ファーマシユーティカルズ、インコーポレーテッド）2004.10.21, 【請求項1】、【請求項18】、【請求項19】、【0026】、【0049】 - 【0051】、【0056】 - 【0058】、【0104】 - 【0106】 & US 2002/0183259 A1 & WO 2002/065988 A2 & CA 002437989 A	1, 2, 11-13 3-10	
Y	JP 2-300133 A（新技術開発事業団）1990.12.12, 特許請求の範囲、第2頁右上欄第14行 - 左下欄第12行、第3頁右下欄第3行 - 第4行、第3頁右下欄第9行 - 第15行 & EP 0397307 A1 & US 5412072	3-10	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 1 3 . 0 7 . 2 0 0 6		国際調査報告の発送日 2 5 . 0 7 . 2 0 0 6	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 吉宗 亜弓 電話番号 03-3581-1101 内線 3457	4 J 3 6 3 9

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	A & JP 8-310970 A & US 5693751 A & AU 9054699 A & CA 2016505 A	
Y	JP 6-206832 A (日本化薬株式会社、桜井靖久、新技術事業団) 1994. 07. 26, 【請求項 1】、【0 0 0 4】、【0 0 3 4】 (ファミリー なし)	4-10
A	JP 8-48766 A (三井東圧化学株式会社) 1996. 02. 20, 【特許請求の 範囲】、【0 0 0 1】 & EP 0685504 A2 & US 5571889 A	6, 7
A	JP 2003-524028 A (エイゾン, インコーポレーテッド) 2003. 08. 12, 【特許請求の範囲】、【0 0 4 2】 - 【0 0 4 4】 & WO 2001/021135 A2 & AU 003885101 A & CA 002383240 A	1-13

## 第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってP C T規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1に係る発明は、C欄に記載の文献（JP 2004-532289 A）に記載されるとおり、新規でない。したがって、請求の範囲1に係る発明は、P C T規則13.2の第2文の意味における「特別な技術的特徴」を有さない。

よって、請求の範囲1－13に係る発明は、一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的な関係がなく、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。